アスベスト分析における前処理時間の短縮を目的とした低温灰化条件の検討

中村　周平

低温灰化法は，有機繊維，メンブランフィルター等の有機物を除去し，アスベスト等の無機物を残すため，アスベスト分析における電子顕微鏡法の前処理法として用いられている．低温灰化時間の短縮を目的に，高周波出力，酸素流量を変化させ，低温灰化装置の最適条件を検討した．

クリソタイル標準試料を用いて標本を作成し,低温灰化前後の標本を位相差顕微鏡で観察し,フィルターの形状の変化，繊維数の変化を確認した．高周波出力，酸素流量を変化させ，低温灰化を行ったところ，高周波出力を 150，200，300W に上げて低温灰化を行っても，高周波出力を 100W に設定して，低温灰化を行った時とほぼ同じ割合のクリソタイルが残存することが確認された．また，高周波出力を上げることで低温灰化時間を短縮できることが分かった．しかし，高周波出力を 300W，酸素流量を 200 mL/min に設定し，低温灰化を行い，画像を観察したところ 20μm～50μm 程度の孔が多数確認された．また，酸素流量を変化させて，低温灰化を行ったが，灰化時間に差は見られなかった．

キーワード　アスベスト,クリソタイル,位相差・分散顕微鏡,低温灰化法,分散染色法

1　はじめに

解体現場のアスベスト除去工事は，工期が短いものでは数日間で終わる場合があることから，早急に測定結果が出ることが望ましい．アスベストモニタリングマニュアル第 4.0 版[1)]では，電子顕微鏡でアスベスト繊維を同定する方法が公定法として記載されており，電子顕微鏡法(A-SEM 法,A-TEM 法)の前処理法として，低温灰化法が記載されている．電子顕微鏡法は，位相差顕微鏡法より多くの時間を要するため，分析時間を短縮するには前処理である低温灰化の時間短縮が求められる．

低温灰化は，減圧下で，酸素に高周波出力を加えることによって，分子状酸素から電子，原子を分離させプラズマ状態の酸素をつくり，これを有機物と反応させ，有機物の除去を行う方法である[2)]．

低温灰化時間を短縮するには，高周波出力（以下，「出力」という）を上げる必要があるが，高すぎる出力は急激な反応の原因となるため，有機繊維，フィルター等有機物が灰化されるだけでなく，無機繊維が飛散してしまう可能性がある．また，低温灰化が十分に行われず,メンブランフィルター(以下,「フィルター」という）が残存する場合に，再度低温灰化を行うと試料室内を真空にしたときに試料が飛散する可能性があるので，一度の処理で有機物が除去されるよう低温灰化条件を検討し，実施する必要がある．

そこで，低温灰化時間の短縮を目的に出力，酸素流量の条件を変更し，灰化前後のフィルターの形状，繊維数の変化から低温灰化装置の最適処理条件を検討した．

2　方　　法

位相差・分散顕微鏡は，ニコン製 ECLIPSE80i を使用した．以下，位相差機能で使用した場合は位相差顕微鏡、分散機能で使用した場合は分散顕微鏡という．位相差顕微鏡は，開口数 0.75，倍率 40 倍の位相差用対物レンズ，倍率 10 倍の接眼レンズを用いた．位相差顕微鏡の調整後，HSE/NPL 検出限界試験用スライド（以下,「テストスライド」という）で検出限界の確認を行った．位相差顕微鏡では，グループ 5（0.44μm）をはっきり観察できることを確認し，顕微鏡を使用した．

計数対象粒子については,長さ 5μm 以上,幅 3μm 未満で，アスペクト比 3 以上の繊維状粒子を計数した．

また，観察視野については，灰化前後で同じ視野の画像を比較するため，画像を保存する必要がある．位

相差顕微鏡視野内のアイピースグレイティクル領域（直径：300μm 円）内は，モニターに領域内(矩形：230μm×310μm)がすべて映らないため,位相差顕微鏡で観察した画像が表示されるモニターを観察視野とした.なお,表示されるモニターとアイピースグレイティクル領域内の視野面積はほぼ同じである.

2. 1　模擬試料の作成

石綿標準試料として社団法人日本作業環境測定協会のクリソタイル標準試料（JAWE121）を用いて，JIS A1481「建材製品中のアスベスト含有率測定方法」[3]を参考に標本を作成した．標準試料を無じん水と共に全量フラスコに入れ,超音波処理を行った後,溶液をフィルターに吸引濾過し,デシケーターに入れ乾燥させた.なお，フィルターは東洋濾紙株式会社製，セルロースエステル製フィルター（直径 47mm，孔径 0.8μm）を使用した.

2. 2　繊維径分布の計測

繊維径計測用の標本は，アスベストモニタリングマニュアル第3版[4]に従って標本を作成した.フィルターの採じん面を上にして，スライドガラスに載せ，アセトン蒸気で透明化した後，クリソタイルと屈折率の近いトリアセチンを滴下しカバーガラスをかけて作成した.

作成した標本を位相差顕微鏡で観察し，生物顕微鏡に切り替えることによる繊維像の消失・残存によってクリソタイルかその他の繊維かを判別し，画像を保存した．保存した画像を A4 サイズの紙に印刷し，2. 7 写真計測法により繊維径，繊維数の計測を行った.

2. 3　低温灰化前の標本の観察

低温灰化を行う標本は，フィルターの採じん面を下にして，スライドガラスに載せ，アセトン蒸気で透明化処理した後，カバーガラスをかけ標本を作製した．作成した標本を位相差顕微鏡で計数し，1 つの標本につき 25 視野観察し画像を保存した．保存した画像をA4サイズの紙に印刷し,2. 7写真計測法により繊維径,繊維数の計測を行った.

2. 4　低温灰化法

低温灰化装置は，ヤマト科学株式会社製 PR300 型を使用した.PR300 型は,試料室が 3 つ設置されており，試料室間の差をなくすため，全標本同一の試料室を使用して低温灰化を行った.

低温灰化の設定条件について,出力は,100W,150W,200W,300W とした.酸素流量は,メーカーの取扱説明書に,出力値(W)の約 3 分の 1 の値(mL/min)と記載されていることから，出力値の約 3 分の 1 の値，また，短縮化条件を検討するため，出力の約 3 分の 2 の値を設定条件とし,出力，酸素流量を組み合わせ，低温灰化を行った．なお，出力の約 3 分の 1，約 3 分の 2 の値の酸素流量は，表 1 に示す通りである.

表 1　酸素流量条件

出力(W)		100	150	200	300
酸素流量(mL/min)	出力の1/3の値	35	50	65	100
	出力の2/3の値	65	100	135	200

2. 5　低温灰化後の標本の観察

2. 3 で作成した標本について，アセトン気化後カバーガラスを外し，設定条件を変え，低温灰化を行った.

フィルターが低温灰化によって完全に消失したかどうかを，まず低温灰化後のフィルターの外観を目視にて確認した後，分散染色法を用いて確認した.

また，低温灰化後のフィルター形状の変化，低温灰化前後のクリソタイル繊維数の変化を検討するために,位相差顕微鏡を用いて観察，計数を行った.

2. 6　分散染色法

分散染色法は，低温灰化によってフィルターが消失すると，アスベスト繊維が露出し，浸液が繊維に行き渡ることで分散色を示すことから，フィルターの消失を確かめるために分散染色法を行った.

分散顕微鏡は，開口数 0.75，倍率 40 倍の分散用対物レンズ，倍率 10 倍の接眼レンズを用いた．浸液はカーギル標準屈折率 1.550 を使用した．クリソタイル標準試料について，繊維が赤紫色～青色の分散色を示すかどうかの確認を行った.

2. 7　写真計測法

「位相差・分散顕微鏡による石綿分析の有効性（白石綿の特性と採取条件を基にした解析)」[5]の写真計測法を参考に対物マイクロメーター，スケールルーペを使用し，繊維径の計測を行った.

対物マイクロメーターの 1 目盛りは 10μm と規定されている．位相差顕微鏡で観察した対物マイクロメーターの画像を A4 サイズの紙に印刷した.印刷した紙上の対物マイクロメーターの目盛りをスケールルーペで計測したところ，1 目盛りが 7.6±0.016mm（n=34）であった．このことから，位相差顕微鏡で観察される 10μm は写真計測法で 7.6mm に相当し，この値から換算計数を求めた.

A4 用紙に印刷された繊維径をスケールルーペで計測し,換算係数を乗じて繊維径の値を算出した.なお，クリソタイルは計測する位置によって繊維の太さが異なるため，繊維の中心部分の繊維径を計測した.

写真計測法の検出限界の確認を行った．位相差顕微鏡で観察した画像を紙に印刷し，テストスライドで検出限界を確認したところ,目視でグループ 5 まで,はっきりと確認できたことから，位相差顕微鏡と同等の検出限界があることが確認された.

3　結果と考察

3．1　繊維径分布

クリソタイル標準試料中のクリソタイル，その他の繊維の繊維径を計測した結果を表 2，図 1 に示す．繊維径が 0.39μm 未満の繊維は，モニター上では確認できたが，印刷した紙面上では確認できず，正確な繊維径の計測ができなかったため，0.39μm 以上の繊維数を計数した.

クリソタイル標準試料に含まれるその他の繊維は，0.78μm の繊維が一番細い繊維で,0.65μm 以下の繊維はクリソタイルである可能性が高いことが分かった.

表 2　クリソタイル，その他の繊維の繊維径分布

繊維径（μm）	クリソタイル（本）	その他の繊維（本）
0.39	12	0
0.52	8	0
0.65	13	0
0.78	9	4
0.92	6	7
1.05	4	7
1.18	1	1
1.31 以上	0	8

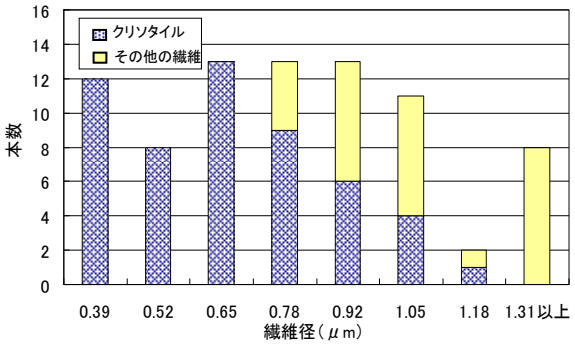

図 1　クリソタイル，その他の繊維の繊維径分布

3．2　フィルターの低温灰化時間

低温灰化時間については，60 分，45 分，30 分，20 分，15 分，10 分，5 分と短縮し低温灰化を行った．ただし,全ての出力段階で，60 分から順次時間を短縮するのではなく，一段階低い出力で要した灰化時間から判断して，次の段階の出力での灰化時間については，適宜より短い時間から出発し順次短縮することとした.

フィルターの低温灰化時間を検証した結果を表 3 に示す.目視にて低温灰化後のフィルターを確認し,フィルターが完全に消失した場合は「消失」,少しでも残った場合には,「残存」と表記した．また，分散染色法を行い，分散色を示す繊維が確認された場合は「有り」と表記した.

表 3 より,出力を 100W に設定して低温灰化を行うと 60 分かかるが，150W では 30 分，200W では 15 分，300W では 10 分でフィルターが完全に消失したことから,高出力にすることで，低温灰化時間を短縮できることが分かった．これは，出力を上げることで，プラズマ化される酸素量が増えるため，反応速度が上がり低温灰化時間が短縮されたためと考えられる.

また，酸素流量を出力値のそれぞれ 3 分の 1，3 分の 2 の値に設定し低温灰化を行ったが，いずれの出力でも酸素流量の違いによる低温灰化時間の差は見られなかった.

表 3　フィルターの低温灰化時間

設定条件		指標	60分	45分	30分	20分	15分	10分	5分
100W	35mL/min	外観	消失	残存	－	－	－	－	－
		分散染色繊維	有り	－	－	－	－	－	－
	65mL/min	外観	消失	残存	－	－	－	－	－
		分散染色繊維	有り	－	－	－	－	－	－
150W	50mL/min	外観	消失	消失	消失	残存	－	－	－
		分散染色繊維	－	有り	有り	－	－	－	－
	100mL/min	外観	消失	消失	消失	残存	－	－	－
		分散染色繊維	－	有り	有り	－	－	－	－
200W	65mL/min	外観	－	－	消失	消失	消失	残存	－
		分散染色繊維	－	－	有り	有り	有り	－	－
	135mL/min	外観	－	－	消失	消失	消失	残存	－
		分散染色繊維	－	－	有り	有り	有り	－	－
300W	100mL/min	外観	－	－	－	－	消失	消失	残存
		分散染色繊維	－	－	－	－	有り	有り	－
	200mL/min	外観	－	－	－	－	消失	消失	残存
		分散染色繊維	－	－	－	－	有り	有り	－

3. 3　低温灰化後の標本表面形状観察

2. 3 で作成した標本について,カバーガラスを外し,低温灰化を行った．位相差顕微鏡で観察した低温灰化後の画像を図 2，3，4，5，6，低温灰化後の標本表面形状観察結果を表 4 に示す．図 2，3，4，6 は出力をそれぞれ 100W，150W，200W，300W，酸素流量を出力値の 3 分の 2 の値に設定し，低温灰化を行った後の画像である．図 5 は出力を 300W，酸素流量を出力値の 3 分の 1 の値に設定し，低温灰化を行った後の画像である．

出力を 300W，酸素流量を出力値の 3 分の 2 の値（200mL/min）に設定し低温灰化を行ったところ，20～50μm 程度の多角形又は円形の孔が多数確認された（図 6)．しかし,同一出力で，酸素流量を出力値の 3 分の 1 の値(100mL/min)に設定し灰化を行ったところ,孔は確認されなかった（図 5)．

また，出力を 100W，150W，200W に設定した場合,酸素流量が出力値の 3 分の 2,3 分の 1 いずれの値に設定した場合においても,低温灰化後の孔は確認されなかった（図 2，3，4)．

出力を 300W，酸素流量を出力値の 3 分の 2 の値（200mL/min）に設定し，低温灰化を行った時に孔が多数生じたのは，出力，酸素流量をあげることで，プラズマ化される酸素量が増えたため，フィルターとの反応が急激に進み，孔が生じたと考えられる．孔が多数生じることで，繊維と孔の輪郭が重なることもあり，これに起因する計数誤差が生じる可能性がある．

以上より，出力 200W 以下，または，出力を 300W，酸素流量を出力値の 3 分の 1 の値（100mL/min）という条件で低温灰化を行えば，孔が生じることなく灰化できることが分かった．

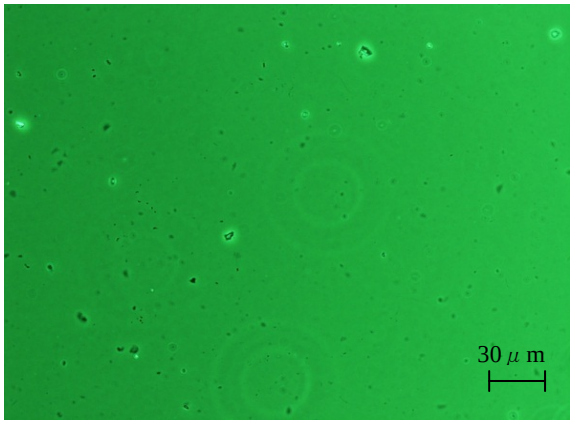

図 2　低温灰化後の画像（条件：100W，65mL/min，60 分灰化）

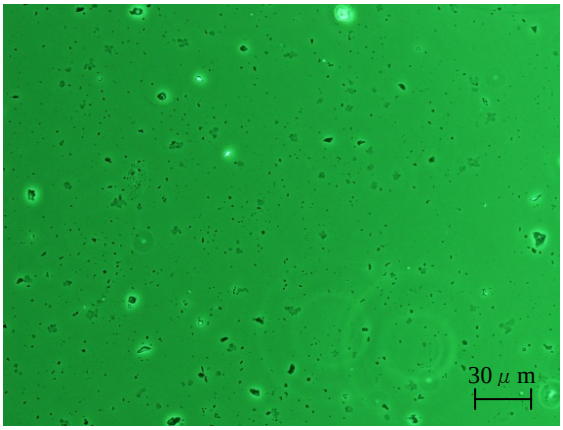

図 3　低温灰化後の画像（条件：150W，100mL/min，30 分灰化）

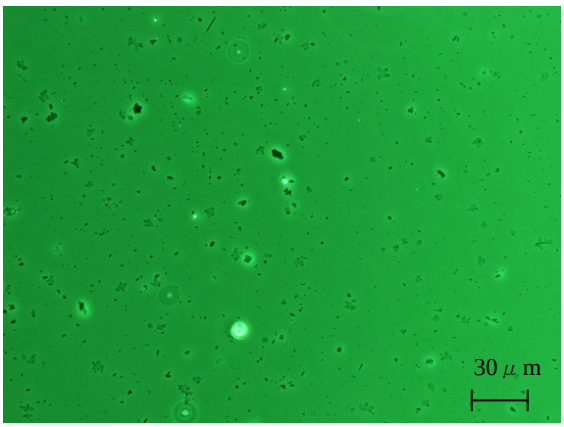

図 4　低温灰化後の画像（条件：200W，135mL/min，15 分灰化）

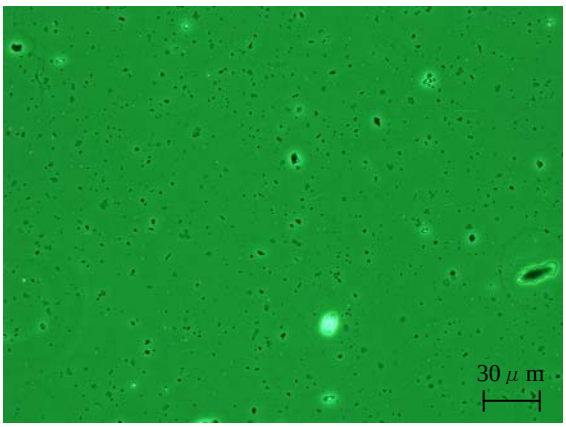

図 5　低温灰化後の画像（条件：300W，100mL/min，10 分灰化）

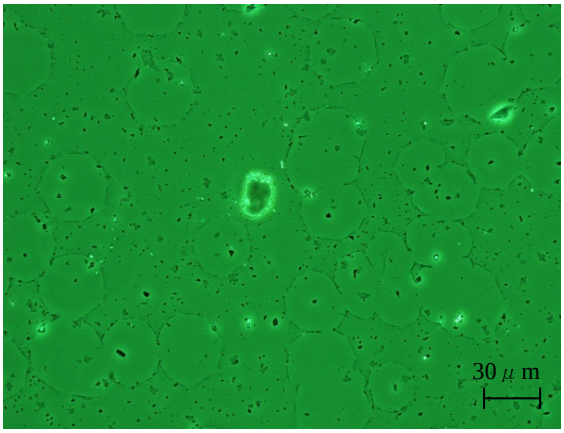

図 6　低温灰化後の画像（条件：300W，200mL/min，10 分灰化）

表 4　低温灰化後の標本表面形状観察結果

設定条件		孔
100W	35mL/min，60分灰化	無し
	65mL/min，60分灰化	無し
150W	50mL/min，30分灰化	無し
	100mL/min，30分灰化	無し
200W	65mL/min，15分灰化	無し
	135mL/min，15分灰化	無し
300W	100mL/min，10分灰化	無し
	200mL/min，10分灰化	有り(20～50μm)

3．4　低温灰化前後の繊維数の変化

低温灰化を行う標本は，フィルターをアセトン処理した後，低温灰化を行うのでトリアセチンを滴下しない．そのため，位相差顕微鏡から生物顕微鏡に切り替えることで，クリソタイル繊維か，その他の繊維かを判別することができない．そこで，3.1 繊維径分布で，クリソタイル標準試料のうち 0.65μm 以下の繊維は，クリソタイルである可能性が高いことが分かったことから，0.65μm 以下の繊維に着目し，低温灰化前後の繊維数の変化を検証した．

低温灰化前の標本を 25 視野観察し，A4 サイズの紙に印刷し，0.65μm 以下の繊維の本数を数え，確認した．次に，低温灰化後，低温灰化前に観察した 25 視野と同じ視野で，同じ繊維を観察し，0.65μm 以下の繊維が低温灰化前後で消失・変化するか観察を行った．なお，0.39μm 未満の繊維は印刷した紙面上では確認できず，正確な繊維径の計測ができなかったため，0.39～0.65μm の繊維数についての変化の確認を行った．

低温灰化前後の，繊維数の変化を表 5 に示す．「低温灰化前の繊維数」は，低温灰化前に 25 視野観察した時の 0.39～0.65μm の繊維数である．「低温灰化後の繊維数」は，低温灰化後に 25 視野観察した時の 0.39～0.65μm の繊維数である．

低温灰化は出力を過剰に上げると，急激な反応が起こり，有機物と共に無機繊維が飛散することが懸念されるため，有機物との反応がゆっくり進むように，出力を 100W 程度に設定し，低温灰化を行うことが多い．そこで，まず出力を 100W，酸素流量を出力値の 3 分の 1，3 分の 2 の値の設定条件で，低温灰化を行ったところ，93.7，94.1％の繊維が残ることが確認された．

次に，出力を 150W，200W，300W，酸素流量を出力値のそれぞれ 3 分の 1，3 分の 2 の設定条件で低温灰化を行ったところ，93.4～96.8％の繊維の残存が確認された．

このことから，クリソタイルの可能性が高い 0.39～0.65μm の繊維は，出力を 150～300W に上げて低温灰化を行っても，残存する可能性が高いことが分かった．

表 5　低温灰化前後の繊維数の差，残存割合

設定条件		低温灰化前の繊維数（本）	低温灰化後の繊維数（本）	低温灰化前後の繊維数の差（本）	低温灰化前後の繊維の残存割合（%）
100W	35mL/min，60分灰化	48	45	3	93.7
	65mL/min，60分灰化	34	32	2	94.1
150W	50mL/min，30分灰化	51	48	3	94.1
	100mL/min，30分灰化	53	50	3	94.3
200W	65mL/min，15分灰化	51	49	2	96.0
	135mL/min，15分灰化	35.5	33.5	2	94.3
300W	100mL/min，10分灰化	64	62	2	96.8
	200mL/min，10分灰化	46	43	3	93.4

図 7 は，低温灰化前の画像を拡大したものである．図 8 は，出力 300W，酸素流量 200mL/min，10 分低温灰化後，低温灰化前と同じ視野を拡大したものである．3．3 フィルターの形状で，出力 300W，酸素流量 200mL/min の条件で低温灰化を行った時に，多数の孔が確認されたが，図 7，図 8 から孔が生じた部分でもクリソタイル繊維が飛散することなく残ることが分かった．

以上より，出力を 150～300W にあげて低温灰化を行っても，出力を 100W に設定して低温灰化を行った時とほぼ同じ割合のクリソタイルが残存することが分かった．また，出力 300W，酸素流量 200mL/min の設定条件で低温灰化を行い，孔が生じた部分でも，クリソタイル繊維が残存することが確認された．

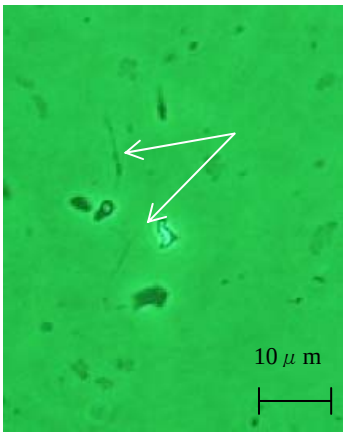

図 7　**低温灰化前の拡大画像**

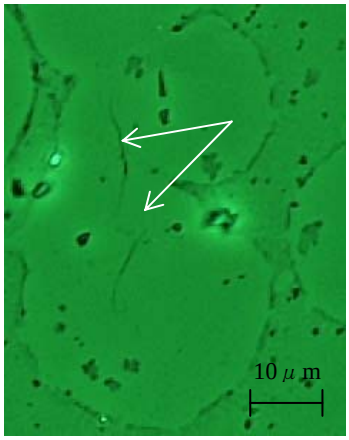

図 8　**低温灰化後の拡大画像（条件:300W, 200ml/min, 10 分灰化）**

4　ま　と　め

本研究の結果，低温灰化前後でのクリソタイルの残存割合は，出力を 150W，200W，300W に上げてもほぼ同じであったことから，出力を上げてもクリソタイルが残存する可能性が高いことが確認された．また，低温灰化時間をそれぞれ 30 分，15 分，10 分に短縮できることが分かった．

出力を 300W，酸素流量を 200mL/min に設定し低温灰化を行うと，孔が多数確認されたが，孔の部分でも繊維が残ることが確認された．しかしながら，繊維と孔の輪郭が重なる可能性もあり，繊維の計数が困難なことから，計数誤差が大きくなることが推察される．

以上のことから，出力 300W，酸素流量 100mL/min，または，出力 150，200W，酸素流量を出力のそれぞれ 3 分の 1，3 分の 2 の値に設定し低温灰化を行うことで，繊維の飛散なく，また孔が生じることなく低温灰化時間を短縮できることが分かった．

今後，この結果を参考に，状況に応じて設定条件を検討し，低温灰化装置を活用することが望まれる．今回は，クリソタイル標準試料で標本を作成し，低温灰化条件の検討を行ったが，実際に捕集した試料は有機繊維，粒子等測定の誤差要因となる物質も多く存在する．このため，低温灰化で有機繊維等有機物の灰化を行い，繊維数を減らすことが求められる．今回は，フィルターが消失する時間の検討を行ったが，今回の結果を参考に，有機繊維，粒子が消失する設定条件の検討を行い，最適な低温灰化時間で実施することが望まれる．

また，低温灰化法は，試料の作成，操作等を誤ると繊維が飛散する可能性があるので注意が必要である．アセトンで透明化処理を行った時に，完全にスライドガラスに張り付いていないと，その部分の繊維が飛散する可能性があり，測定値に大きな影響を及ぼすことが考えられる．低温灰化法の試料の作成から操作方法まで十分に検討し低温灰化を行う必要がある．

低温灰化法の試料の作成から設定条件までを検討することで，アスベスト分析の時間の短縮，精度の向上につながると考えられ，アスベスト除去工事での迅速な行政指導に繋がると期待される．

文　　献

1)　環境省：アスベストモニタリングマニュアル（第 4.0 版）（2010）
2)　穂積啓一郎：酸素プラズマによる低温灰化技術，http://www.j-sl.com/chn/write_14/14_main01.html（2012.2.2）
3)　（財）日本規格協会：JIS A　1481 建材製品中のアスベスト含有率測定法(2008)
4)　環境省：アスベストモニタリングマニュアル（第 3 版）（2007）
5)　池澤正幸，邑岡和昭：位相差・分散顕微鏡による石綿分析の有効性（白石綿の特性と採取条件を基にした解析），高知県環境研究センター所報，**23**, 13-19（2006）